

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 年度～2008 年度
 課題番号：19591362
 研究課題名（和文） cAMP 情報伝達系を標的にした気分障害と統合失調症の新規治療に関する研究
 研究課題名（英文） Novel treatment on the targets of cAMP signal transduction for mood disorder and schizophrenia
 研究代表者：小澤 寛樹（Ozawa Hiroki）
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
 研究者番号 50260766

研究成果の概要：

ICD-10 によってうつ病（と診断された長崎大学医学部・歯学部附属病院精神神経科を受診した 50 歳以上の患者のうち薬物抵抗性または薬物治療不耐性と判断する外来・入院症例を対象した。心疾患の既往またその他の重症な身体疾患がなく、頭部MRIを施行し、T2, T1 画像にて確認される微小梗塞が存在するうつ病症例において書面にて同意を得た症例に対して脳梗塞の臨床適応が認められているcAMP増強薬（シロスタゾール）を使用した。シロスタゾールを脳梗塞後うつ病患者 10 名に関して 50 - 200 mg 投与し、0、4、8、12 週時のHAM-D、血清BDNFを測定した。HAM-Dは経時的に減少を示し、血中BDNFは経時的に増加を示した。一方統合失調症においては変化が認められなかった。

基礎的検討としての神経幹細胞に対するリチウムとドーパミン作動薬でありメチルフェニデートの影響を検討した。リチウムは幼弱な神経細胞のマーカーであるTuj 1 陽性細胞数は、どの濃度でもコントロール群に比べ減少が認められ、1000 μMではコントロール群に対して統計学的に有意に減少がみられた。メチルフェニデートは治療濃度においては神経細胞の分化は促進し、高濃度では抑制を示した。一方グリアのマーカーであるGFAP陽性細胞に関しては、500 μMまでは増加傾向を示したが、1000 μMでは統計学的な有意差を持って減少が認められた。メチルフェニデートはグリアへの分化には影響は少なかった、また増殖能に関しては抑制的である。これまで我々は炭酸リチウムが濃度依存的に神経幹細胞の増殖能を促進することを報告しているが、このことは増殖の過程と分化は単純に同一というよりむしろ拮抗的なバランスが存在している可能性が示唆され、うつ病や統合失調症の難治化・慢性化にはグリア細胞の役割が重要であることが推察された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：臨床研究

費の科研分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：うつ病、脳情報伝達、cAMP、BDNF、神経幹細胞

1. 研究開始当初の背景

うつ病（気分障害）と統合失調症はともに人口の数%以上が罹患する高頻度疾患であり、長期治療が必要なため膨大な社会的コストを有する。**機能性障害と考えられていた気分障害・統合失調症に器質・構造的変化を示す所見が数多く報告されている。**内因性精神疾患の再発再燃によりその構造的変化（海馬萎縮など）が促進することから、このような神経可塑的变化を支える機構の存在が示唆される。その生物学的基盤としてアポトーシスや神経幹細胞を介した神経細胞新生が関与する報告がなされている。具体的には、抗うつ薬、定型・非定型抗精神病薬、電気痙攣、スルピリド、生育環境（虐待）が cAMP-CREB-BDNF 系などの脳情報伝達系を介して神経細胞新生に影響を及ぼす報告が動物実験において報告されている。これまで申請者らは薬理学研究から向精神病薬の作用点として 2 次メッセンジャーを中心とした脳情報伝達系の関与を示し、さらにうつ病と慢性統合失調症の死後脳研究において cAMP 産生能・イノシトールリン酸（IPs）産生能とその下流の転写因子・神経栄養因子が変化することを報告してきた。脳情報伝達系を介した各種神経栄養因子に変化が生じ、ヒト高次機能担う部位の神経可塑的变化 **【脳情報伝達系の変化 遺伝子・蛋白発現（栄養因子）の増減 神経幹細胞 神経細胞死・神経細胞新生 神経回路網・細胞構築の改変】**が両精神疾患の成因に重要な役割を持つと考えられた。よって両内因性精神病の原因と治療に関与する神経可塑性の基盤が**神経幹細胞**を介して行われていることが強く推察され、脳情報伝達系、特に cAMP 系の標的として**内在性神経幹細胞を活性化**することが新たな精神疾患の治療法と

して最も有力な方法であるという考えに至った。

2. 研究の目的

神経可塑性に重要な脳情報伝達系である cAMP-CREB-BDNF 系関与する薬剤であるシロスタゾール（ホスホエステラーゼ 阻害薬）のうつ病、統合失調症に対する影響を検討した。また基礎的検討としての神経幹細胞に対するリチウムとドーパミン作動薬でありメチルフェニデートの影響を検討した。

3. 研究の方法

ICD-10 によってうつ病（と診断された長崎大学医学部・歯学部附属病院精神神経科を受診した 50 歳以上の患者のうち薬物抵抗性または薬物治療不耐性と判断する外来・入院症例を対象した。心疾患の既往またその他の重症な身体疾患がなく、頭部 MRI を施行し、T2, T1 画像にて確認される微小梗塞が存在するうつ病、統合失調症症例において書面にて同意を得た症例に対して脳梗塞の臨床適応が認められている cAMP 増強薬（シロスタゾール）を使用した。シロスタゾール 50 - 200 mg 投与し、0、4、8、12 週時の HAM-D、血清 BDNF を測定した。BDNF を Promega BDNF Emax™ ImmunoAssay System を用い E L I S A 法により測定した。

長崎大学動物実験指針に従い、胎齢 15.5 日マウス胎仔脳から線条体原基を分離・分散後、成長因子 [EGF (20ng/ml)] を加えた MHM (Media Hormone Mix) 培養液中に 20×10^4 cells/ml となるように懸濁し、37 °C・5%CO₂ にて neurosphere 法によって T75 フラスコを使い培養を行った。培養 6 日後に培養液を 50ml tube に回収して、1200rpm・5 分・RT で遠心分離後、上清をアスピレーションして、上記

MHM 培養液を 2ml 加え、ピペティングによって機械的に neurosphere を解離した。その溶液を 40 μ m セルストレーナーに通した後、溶液をセルストレーナーに通した後、Lab-tek chamber slide に細胞を播種しました。ポリエルリジンとラミニンでコートした Lab-tek chamber slide に細胞濃度 22.8×10^4 cells で播種しました。それぞれのチャンバーに 1%FBS および炭酸リチウム (0 μ M/100 μ M/500 μ M/1000 μ M) を添加し、4 日間培養しました (EGF や bFGF は除去)。培養 4 日目に 4%PFA を添加し、反応をストップさせ、比較的未分化なニューロンマーカーである Tuj1 およびアストロサイトのマーカーである GFAP にて 2 重染色を行った。染色 2 日目に GFAP に対して Alexa 568 を、Tuj1 に対して Alexa 488 を用いて染色を行った。なお、核染色には hoechst 33258 を用いた。

4 . 研究成果

シロスタゾールを脳梗塞後うつ病患者 10 名に関して 50 - 200 mg 投与し、0、4、8、12 週時の HAMD、血清 BDNF を測定した。HAMD は経時的に減少を示し、血中 BDNF は経時的に増加を示した。一方統合失調症においては変化が認められなかった。リチウムは幼弱な神経細胞のマーカーである Tuj1 陽性細胞数は、どの濃度でもコントロール群に比べ減少が認められ、1000 μ M ではコントロール群に対して統計学的に有意に減少がみられた。メチルフェニデートは治療濃度においては神経細胞の分化は促進し、高濃度では抑制を示した。一方グリアのマーカーである GFAP 陽性細胞に関しては、500 μ M までは増加傾向を示したが、1000 μ M では統計学的な有意差を持って減少が認められた。メチルフェニデートはグリアへの分化には影響は少なかった、また増殖能に関しては抑制的である。これまで我々は炭酸リチウムが濃度依存的に神経幹細胞の増殖能を促進することを報告しているが、このことは増殖の過程と分化は単純に同一というよりむしろ拮抗的なバランスが存在している可能性が示唆され、うつ病や統合失調症の難治化・慢性化にはグリア細胞の役割が重要であることが推察された。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

Motohashi N, Shioe K, Nakamura J, Ohshima A, Yamada K, Ozawa H, Someya T, Uchitomi Y, Higuchi T: Revised psychopharmacological algorithms for the treatment of mood disorders in Japan. Int J Psychiat Clin Prac 12 (1): 11-18, 2008 査読有

Nakazawa N, Imamura A, Nishida A, Ozawa H, Okazaki Y: Association between Psychotic-like Experiences And Behavioral Features among Japanese Early Teens. The World Journal of Biological Psychiatry. 9 (Supple) 147, 2008 査読無

Imamura A, Tasaki S, Ono S, Hashida A, Kurotaki N, Kikuchi T, Yoshiura K, Okazaki Y, Ozawa H: Copy number analyses in monozygotic twins discordant for schizophrenia. The World Journal of Biological Psychiatry 9 (Supple) 149, 2008 査読無

小澤寛樹, 森 貴史, 尾関あゆみ: 疾患と神経新生 うつ病 Clinical Neuroscience 26(8): 863-865, 2008 査読無

西原浩二, 小澤寛樹: 抗精神病薬(第 1 世代、第 2 世代、その他) .医学と薬学 60 (2): 171-177, 2008 査読無

尾崎智治, 中根秀之, 小澤寛樹: ライフイベントのよるうつ病やパニック障害の再発とその予測 . 精神科治療学 22 (9): 1059-1064, 2008 査読有

石田 康, 長友慶子, 池田 学, 内村直尚, 大内 清, 小澤寛樹, 北村俊則, 近藤 毅, 赤崎安昭, 佐野 輝, 寺尾 岳, 西村良二,

山田茂人, 神庭重信, 中村 純: プライマリ
ケア医のうつ病診療に関する実態調査. 九州
神経精神医学 54 (2): 120-126, 2008 査読無

中澤紀子, 林 秀佳, 越本莉香, 小澤寛樹:
心身のケア. 臨牀と研究 85 (6): 841-845, 2008
査読無

〔学会発表〕(計 7 件)

Horai S, Nakagawa S, Morofuji Y, Shimoto T,
Deli A.M, Ozawa H, Niwa M: Effect of ilostazol
on the Blood-brain Barrier(BBB) functions in
vitro, Signal Transduction in the Blood-Brain
Barriers 11:17, 2008

Nakazawa N, Imamura A, Nishida A, Ozawa H,
Okazaki Y: Association between Psychotic-like
Experiences And Behavioral Features among
Japanese Early Teens. The World Journal of
Biological Psychiatry 9 (Supple): 147, 2008

Imamura A, Tasaki S, Ono S, Hashida A,
Kurotaki N, Kikuchi T, Yoshiura K, Okazaki Y,
Ozawa H: Copy number analyses in monozygotic
twins discordant for schizophrenia, The World
Journal of Biological Psychiatry 9 (Supple): 149,
2008

野中俊輔, 木下裕久, 野畑宏之, 一之瀬仁
志, 千葉洋介, 中根秀之, 小澤寛樹: 多重債
務者のメンタルヘルスとケアのためのネッ
トワーク構築に関する調査研究. 第 61 回九
州精神神経学会, 第 54 回九州精神保健学会 p
64, 2008

越本莉香, 蓬萊彰士, 岩永洋一, 住秀佳,
中澤紀子, 木下裕久, 中根秀之, 小柳津奈子,
龍恵美, 高田正史, 北条美能留, 小澤寛樹:

長崎大学医学部・歯学部附属病院緩和ケアチ
ームにおける臨床心理士の役割について. 第
61 回九州精神神経学会, 第 54 回九州精神保
健学会 2008

今村 明, 中澤紀子, 西田敦志, 岡崎祐士,
小澤寛樹: 長崎市の中学生を対象とした精神
病様症状体験の調査 日本社会精神医学会 p.
57, 2008

金 賢, 中根秀之, 木下裕久, 越本莉香,
Bahn Geonho, Mun Deok Su, 大津留 晶, 柴
田義貞, 小澤寛樹: 被爆体験が在韓被爆者
に与えた心理的影響に対する検証 日本
社会精神医学会 p. 106, 2008

〔図書〕(計 1 件)

小澤寛樹, 黒滝直弘: 第 12 章 双極性障害
(2008). 気分障害: 医学書院 413-431, 2008
査読無

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小澤 寛樹 (Ozawa Hiroki)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教
授
研究者番号: 50260766

(2) 研究分担者

中根秀之 (Nakane Hideyuki)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准
教授
研究者番号: 90274795

黒滝直弘 (Kurotaki Naohiro)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師
研究者番号：20423634

木下裕久 (Kinosita Hirohisa)
長崎大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号：10380883

(3)連携研究者